

С. В. КУЗЬМИЧ, О. А. БАДАЛЯН, Е. А. НИКОЛАЙЧИК

АНАЛИЗ ИНДУКЦИИ И СУПРЕССИИ MAMP-ИНДУЦИРУЕМОГО ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЙ *NICOTIANA BENTHAMIANA* ПРИ КОНТАКТЕ С *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM*

MAMP-индуцируемая устойчивость (MTI) основана на распознавании рецепторами растительной клетки консервативных компонентов бактериальной клетки (флагеллин, липополисахариды, EF-Tu), обозначаемых общим термином MAMP (microbe-associated molecular pattern). Многие вирулентные патогены способны преодолевать MTI путем супрессии этой иммунной реакции своими эффекторными белками, однако роль MTI в ходе взаимодействия с растениями бактерий из рода *Pectobacterium* до сих пор не была установлена. Цель работы – идентификация ключевых факторов, контролирующих развитие MTI, как со стороны патогена, так и со стороны растения. В настоящей работе установлено, что эффекторный белок DspE бактерий *P. atrosepticum* блокирует MTI у растений табака *Nicotiana benthamiana*. С использованием вирусиндуцированного сайленсинга генов компонентов сигнальных цепочек *N. benthamiana* установлено, что индукция MTI при контакте растений с *dspE*-мутантами *P. atrosepticum* происходит с участием мембранных рецепторных киназ RLK2 и RLK5, а также цитоплазматической киназы TPK1b. Сайленсинг генов MAP-киназ *SIPK* и *WIPK*, напротив, способствовал индукции MTI клетками *P. atrosepticum* дикого типа.

Ключевые слова: MAMP-индуцированная устойчивость; *Pectobacterium atrosepticum*; *Nicotiana benthamiana*; DspE; RLK; SIPK; WIPK; TPK1b.

MAMP-triggered immunity (MTI) is based on the recognition of MAMPs (microbe-associated molecular patterns) – conserved essential molecules of microbial cell such as flagellin, lipopolysaccharides, EF-Tu, by specialised receptors of the plant cell. Virulent pathogens can overcome MTI with the help of their effector proteins. However, the contribution of MTI to plant resistance to pathogens from the *Pectobacterium* genus is not obvious. Only one effector protein DspE has been characterised for this phytopathogen. The aim of this work was the identification of key factors controlling MTI, from both the plant and the pathogen sides. We have determined that the DspE effector protein of *P. atrosepticum* blocks MTI development in *Nicotiana benthamiana*. Virus induced gene silencing was further used for isolation of plant genes involved in MTI. This approach allowed us to determine that MTI requires membrane receptor-like kinases RLK2 and RLK5, as well as the cytoplasmic kinase TPK1b. Silencing of the MAP-kinases *SIPK* and *WIPK*, on the other hand, allowed the wild type *P. atrosepticum* cells to induce MTI.

Key words: MAMP-triggered immunity; *Pectobacterium atrosepticum*; *Nicotiana benthamiana*; DspE; RLK; SIPK; WIPK; TPK1b.

Детекция микроорганизмов растениями осуществляется специализированными мембранными (реже – цитоплазматическими) рецепторами, распознающими консервативные макромолекулы микроорганизмов, в первую очередь патогенов и симбионтов. Поскольку такие макромолекулы жизненно необходимы для успешного существования микроорганизмов и отсутствуют у эукариот, они получили название MAMP (microbe-associated molecular pattern) или PAMP (pathogen-associated molecular pattern). Типичными MAMP являются основной белок бактериального жгутика флагеллин, хитин и фактор элонгации трансляции EF-Tu [1]. Рецепторы MAMP, как правило, – локализованные в цитоплазматической мембране киназы или рецепторподобные белки, формирующие комплекс с мембранной киназой. Пример таких рецепторов растений – распознающий бактериальный флагеллин комплекс специализированного рецептора FLS2 с универсальным корецептором BAK1 [1]. Распознавание патогена с помощью рецептора MAMP приводит к развитию MAMP-индуцируемого иммунитета – MTI (MAMP-triggered immunity) [2]. MTI – относительно малоспецифичный механизм иммунитета, так как может индуцироваться посредством взаимодействия растения даже с непатогенным организмом, продуцирующим соответствующий MAMP.

Наиболее вирулентные патогены способны преодолевать MTI путем супрессии этой иммунной реакции своими эффекторами (белками вирулентности патогенов, доставляемыми ими в клетки растений) [3]. Со своей стороны, устойчивые к патогену растения при помощи специфических мембранных или цитоплазматических рецепторов могут распознавать эффектор(ы) патогена и активировать другой механизм устойчивости – ETI (effector-triggered immunity). ETI обычно выражается в развитии локальной реакции сверхчувствительности (РСЧ) – гибели клеток растения в местах проникновения патогена, а также в индукции системной устойчивости [4]. ETI и MTI считаются взаимосвязанными, но в случае ETI защитный ответ растения развивается быстрее и интенсивнее, причем индукция ETI и развитие РСЧ обычно маскируют MTI [4].

Механизмы ETI и MTI хорошо исследованы при взаимодействии растений с биотрофными патогенами, тогда как данные о роли этих путей активации иммунной системы растений в ходе инфекции некротрофными патогенами разрозненны и противоречивы. В частности, ETI предполагает быструю активацию РСЧ в месте внедрения патогена, а для некротрофов гибель клеток растения, очевидно, может быть благоприятной [5].

Бактерии из рода *Pectobacterium* – некротрофные патогены, вызывающие различные заболевания у многих растений, для которых доступен минимум информации относительно роли ETI [6–8], а ин-

формация о роли МТИ в ходе взаимодействия этих бактерий с растениями и вовсе отсутствует, поэтому исследование способности растений активировать МТИ при контакте с этими бактериями, а также способности *Pectobacterium* противостоять МТИ и стало основной целью настоящей работы.

Среди имеющихся в нашем распоряжении представителей рода *Pectobacterium* все штаммы *P. carotovorum* (*Pca*) индуцируют у растений *Nicotiana benthamiana* ярко выраженные симптомы РСЧ, однако среди штаммов *P. atrosepticum* (*Pat*) встречаются неспособные индуцировать РСЧ. Поскольку сильная РСЧ делает невозможными стандартные тесты МТИ [9], для настоящего исследования был отобран штамм *Pat* SCRI 1043, не индуцирующий РСЧ у *N. benthamiana*. Кроме того, наличие полной геномной последовательности этого штамма существенно упрощало генетические манипуляции с ним.

Материалы и методы исследования

В работе использованы штаммы бактерий *Pca* JN42, *Pat* SCRI 1043, *Pseudomonas fluorescens* BKMB8305, *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 и *E. coli* BW19851. Штаммы бактерий культивировали в среде LB при 28 °C (*Pectobacterium* spp. и *P. fluorescens*), 24 °C (*A. tumefaciens*) или при 37 °C (*E. coli*).

Растения *Nicotiana benthamiana* выращивали при 20 °C и 16-часовом световом дне.

Мутант бактерий *Pat* SCRI 1043 по гену *dspE* SK1 был получен следующим образом. Клетки бактерии *E. coli* BW19851 были трансформированы суицидной плазмидой *rJP5603::'dspE'*, сконструированной путем клонирования фрагмента *dspE* длиной 278 н. п. по сайтам рестрикции *NheI-EcoRV*. Плазида *rJP5603::'dspE'* была введена в клетки *Pat* SCRI 1043 путем конъюгации. Поскольку *rJP5603* не способна реплицироваться в клетках *P. atrosepticum*, то все клоны, отобранные по плазмидному маркеру канамицинрезистентности, должны были иметь хромосомную вставку *rJP5603::'dspE'*. Инактивация *dspE* у отобранного мутанта SK1 была подтверждена при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для заражения растений бактерии выращивали на плотной питательной среде LB при 28 °C в течение 18 ч. Клетки ресуспендировали в 2 мл 0,85 % раствора NaCl, оптическую плотность полученных суспензий (при 600 нм) доводили до 1.

Для индукции МТИ листья табака *Nicotiana benthamiana* инфильтровали суспензией клеток штаммов-индукторов *P. fluorescens* BKMB8305, *Pat* SCRI 1043 или *Pat* SK1. Через 8 ч после введения индукторов листья были инфильтрованы суспензией клеток индикаторного штамма *Pca* JN42. Инфильтрация проводилась так, чтобы области первой и второй инфильтраций частично перекрывались. Развитие симптомов РСЧ фиксировали через 48 ч после последней инфильтрации.

Процедура вирусиндуцированного сайленсинга и конструкции для инактивации генов *SIPK*, *WIPK*, *RLK5* и *RLK2* *N. benthamiana* описаны в [7, 10, 11]. Для совместного сайленсинга *RLK2* и *RLK5* на стадии заражения семян *A. tumefaciens* использована смесь (1 : 1) суспензий клеток, несущих плазмиды *pTRV2::RLK2* и *pTRV2::RLK5*. Для амплификации гена *TPK1b* применялись праймеры *tgaattctttc-tagaggggattgtttgagtg* и *atagtcgacttaggagctcttagcataaaggggagaagcag*. Фрагмент *XhoI-SmaI* полученного ПЦР-продукта размером 530 н. п. был клонирован в векторе для вирусиндуцированного сайленсинга *pTRV2* по сайтам *XhoI-SspI*.

Методика ОТ-кПЦР, включая последовательности олигонуклеотидов, описана в [10]. Оценка уровней экспрессии генов осуществлялась относительно двух референсных генов *CAC* и *EF-1α* с использованием программы REST 2009 2.0.13 (QuiaGen).

Результаты исследования и их обсуждение

Типичное проявление МТИ заключается в супрессии РСЧ в той части листа растения, в которую были предварительно введены бактерии, способные индуцировать МТИ. В наших экспериментах такой результат наблюдался при использовании в качестве индуктора бактерий *P. fluorescens* BKMB8305, а в качестве индикаторного штамма – бактерий *Pca* JN42 (рис. 1, а). При использовании в качестве индуктора бактерий *Pat* SCRI 1043 симптомы МТИ зафиксированы не были: после введения суспензии индикаторного штамма РСЧ развивалась по всей зоне инфильтрации (рис. 1, б).

Четкие симптомы с контрольным штаммом *P. fluorescens* свидетельствовали о корректных условиях для теста на МТИ, поэтому отсутствие такой реакции со штаммом *Pat* SCRI 1043 явно свидетельствовало о какой-то особенности этого штамма. Такой особенностью могло бы быть, например, отсутствие флагеллина, считающегося основным индуктором МТИ у большинства бактерий. Однако геном *Pat* SCRI 1043 содержит полный набор бактериальных генов двигательного аппарата, включая стандартный ген флагеллина, а клетки SCRI 1043 в условиях наших экспериментов обладали хорошей подвижностью, что исключало возможность слабой экспрессии этого гена.

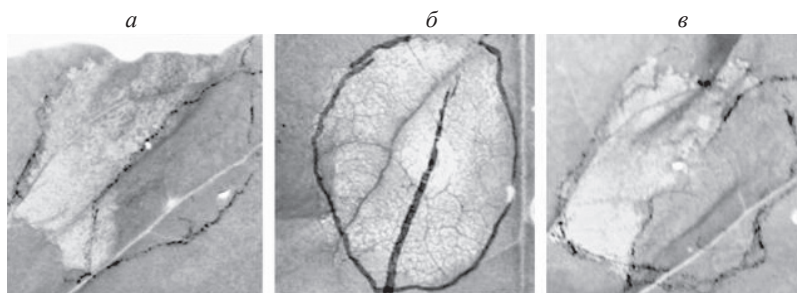


Рис. 1. Ген *dspE* необходим для супрессии МТИ бактериями *P. atrosepticum* у *N. benthamiana*. В листья растений были введены суспензии клеток штаммов *P. fluorescens* (а), *Pat* SCRI 1043 (б) или *Pat* SK1 (в), а через 8 ч – суспензии клеток индикаторного штамма *Pca* JN42. На фотографиях, сделанных через 24 ч после инфильтрации *Pca* JN42, показаны зоны инфильтрации индикаторным штаммом (обведены маркером), примерно посередине которых проходят отмеченные маркером границы зон инфильтрации индуктором МТИ

Альтернативной гипотезой являлось специфическое подавление патогеном реакции МТИ в клетках растения, примеры чего имеются для других патогенов. Например, сразу несколько эффекторных белков *P. syringae* способны специфически блокировать работу рецепторного комплекса FLS2-BAK1 или следующих за ним сигнальных компонентов, тем самым супрессируя МТИ [12, 13]. На сегодняшний день для пектобактерий описан всего один эффекторный белок – DspE [6]. Для DspE и его гомологов, как близких, так и удаленных, никакой роли в подавлении МТИ до сих пор зафиксировано не было. Однако, поскольку мы ранее показали роль белка DspE из родственной бактерии *Pca* в супрессии некоторых иммунных реакций хозяина [14], логичной выглядела проверка супрессорной активности этого белка *Pat* по отношению к реакции МТИ. С этой целью был сконструирован инсерционный мутант бактерий *Pat* SCRI 1043 по гену *dspE*. Стандартный тест МТИ показал, что клетки *dspE*-мутанта, в отличие от клеток исходных бактерий, являются хорошими индукторами МТИ (рис. 1, в). Этот результат свидетельствует, что, как и большинство подвижных бактерий, *Pat* SCRI 1043 потенциально способны активировать МТИ, однако такую активацию иммунитета растения предотвращает продукт гена *dspE*. Следует отметить, что *dspE*-мутант *Pat*, так же как и исходный штамм *Pat* SCRI 1043, не вызывает у растений РСЧ, поэтому отсутствие у этого штамма способности индуцировать ЕТИ (и РСЧ как видимое проявление ЕТИ) у растений *N. benthamiana* не связано с супрессорной активностью *dspE*.

Ранее нам удалось установить, что при инфекции растений бактериями *Pca* белок DspE специфически распознается мембранными рецепторными киназами RLK2 и RLK5, что приводит к активации ЕТИ с участием MAP-киназ SIPK и WIPK [7, 10]. Поскольку по крайней мере в некоторых других системах «хозяин – патоген» одни и те же сигнальные компоненты могут принимать участие в активации как ЕТИ, так и МТИ, была проверена роль указанных выше четырех киназ в активации МТИ у *N. benthamiana* при контакте с *Pat*. Кроме того, проверена возможность участия в контроле МТИ цитоплазматической киназы TPK1b, которая (вместе с ближайшим гомологом BIK1), по данным литературы, может быть следующим после рецепторных киназ компонентом сигнальной цепочки [15, 16].

Совместный сайленсинг генов *RLK2* или *RLK5* предотвращал развитие МТИ в ответ на первичную инфильтрацию суспензиями клеток *dspE*-мутанта *Pat* (таблица). С учетом высокой степени сходства аминокислотных последовательностей *RLK2* и *RLK5* (и соответственно вероятного частичного дублирования функций) такой эффект одновременной инактивации их генов указывает на участие *RLK2* и *RLK5* в детекции *Pat*, что является первым свидетельством в пользу возможной биологической функции этих мембранных рецепторных киназ.

Доля растений с симптомами МТИ

Штамм-индуктор	Инактивированный ген				
	–	<i>RLK2+RLK5</i>	<i>TPK1b</i>	<i>SIPK</i>	<i>WIPK</i>
<i>Pat</i> SCRI 1043	2/13	1/5	1/7	5/6	3/6
<i>Pat</i> SK1	12/17	0/4	0/7	8/11	6/8

Примечание. Результаты учтены через 36 ч после инфильтрации индикаторного штамма. Как положительный результат рассматривались симптомы, сходные с приведенными на рис. 1, а, и рис. 1, в. Данные представлены в формате число растений с симптомами МТИ/общее число растений.

Сайленсинг гена цитоплазматической киназы TPK1b имел тот же эффект, как и совместная инактивация *RLK2* и *RLK5*, что предполагает участие TPK1b в сигнальной цепочке, инициируемой *RLK2/5* и принимающей участие в активации МТИ (см. таблицу). Ближайший гомолог (но не ортолог!) TPK1b, цитоплазматическая киназа BIK1 *Arabidopsis thaliana*, необходим для активации МТИ [17]. У *A. thaliana* BIK1 непосредственно взаимодействует с *FLS2* и *BAK1* и фосфорилирует эти белки [16], являясь таким образом первым после мембранных рецепторных комплексов цитоплазматическим сигнальным компонентом при активации МТИ. С использованием дрожжевой двухгибридной системы нам не удалось зафиксировать взаимодействие TPK1b с *RLK2*, *RLK5* или с *BAK1*, поэтому точное место TPK1b в сигнальной цепочке, приводящей к активации МТИ, требует уточнения.

МАР-киназы являются стандартными сигнальными компонентами, расположенными ближе к концу сигнальных цепочек, ответственных за активацию различных аспектов иммунитета растений. Киназы из семейства МРК3/МРК6 считаются точкой конвергенции сигнальных путей, активируемых в ходе ЕТИ и МТИ [18]. Поскольку ранее мы показали, что представители этого семейства киназы SIPK и WIPK растений *N. benthamiana* необходимы для индукции ЕТИ при инфицировании родственным патогеном *Pca*, в настоящей работе было проверено участие этих киназ в контроле МТИ при контакте растений с *Pat*. Сайленсинг как *SIPK*, так и *WIPK* оказал стимулирующее действие на МТИ. Растения с инактивацией гена любой из этих киназ могли активировать МТИ при их инфильтрации суспензиями клеток *Pat* дикого типа (см. таблицу). Эти данные позволяют предположить, что инактивация SIPK/WIPK меняет статус иммунной системы *N. benthamiana* таким образом, что при контакте с *Pat* происходит более сильная активация МТИ, а это позволяет преодолевать супрессию данной иммунной реакции со стороны патогена. Проверка этого предположения была сделана путем определения уровней экспрессии генов ключевых регуляторов МТИ.

Сайленсинг генов МАР-киназ не оказал существенного влияния на уровни экспрессии генов *RLK2* и *RLK5* (рис. 2). Инактивация *SIPK* в 6 раз повысила базальный уровень экспрессии *FLS2* и примерно в 1,8 раза – гена *TPK1b*, тогда как экспрессия этих двух генов при инактивации *WIPK* почти не изменилась. Экспрессия *BAK1* усиливалась в 7–9 раз при инактивации гена любой из двух МАР-киназ. Таким образом, инактивация *SIPK* повышает экспрессию обоих компонентов рецепторного комплекса, необходимого для детекции флагеллина, *FLS2* и *BAK1*. Растения с инактивированным геном *SIPK* должны иметь значительно большее количество функциональных рецепторов флагеллина, что может объяснять их повышенную чувствительность к этому индуктору МТИ. Сходный фенотип растений с сайленсингом *WIPK*, у которых повышена экспрессия только одного из двух компонентов рецепторного комплекса – корецептора *BAK1*, – может быть следствием того, что белок *FLS2* имеется у растений в избытке, а количество белка *BAK1*, доступного для взаимодействия с *FLS2*, ограничено из-за того, что *BAK1* входит в состав многих других рецепторных комплексов. Альтернативным объяснением наблюдаемых эффектов может быть их обусловленность детекцией другого МАР (не флагеллина) рецепторным комплексом, в состав которого входит *BAK1*. Независимо от природы МАР увеличения количества рецепторного комплекса, предназначенного для его детекции, может быть достаточно для предотвращения DspE-зависимой супрессии МТИ эффекторным белком DspE бактерий *Pat* SCRI 1043.

На основании изложенных выше фактов можно предложить следующую модель событий, происходящих при контакте бактерий *Pat* с растениями *N. benthamiana*. Мембранные киназы *RLK2/5* являются рецепторами МАР, и при контакте с *Pectobacterium* с участием TPK1b запускают МТИ. Одно из последствий активации МТИ – ингибирование программируемой смерти клеток, регистрируемой фенотипически как РСЧ, причем для нормальной активации РСЧ требуется присутствие МАР-киназ SIPK и WIPK. Эффекторный белок DspE, доставляемый патогеном в клетки растений, взаимодействует с киназным доменом *RLK2* и *RLK5* и блокирует активирующую МТИ сигнальную цепочку в самом начале, что делает возможным развитие РСЧ при последующей инфильтрации индикаторного штамма.

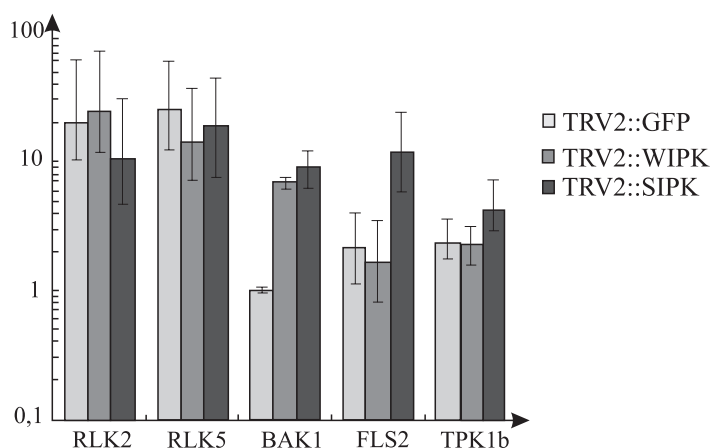


Рис. 2. Эффект сайленсинга генов *SIPK* и *WIPK* на экспрессию генов сигнальных киназ. Приведены средние значения четырех измерений с 95 % доверительным интервалом

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Greeff C., Roux M., Mundy J., Petersen M. Receptor-like kinase complexes in plant innate immunity // *Front. Plant Sci.* 2012. Vol. 3. P. 209.
2. Nicaise V., Roux M., Zipfel C. Recent advances in PAMP-triggered immunity against bacteria: Pattern recognition receptors watch over and raise the alarm // *Plant Physiol.* 2009. Vol. 150, № 4. P. 1638–1647.
3. Dou D., Zhou J.-M. Phytopathogen effectors subverting host immunity: different foes, similar battleground // *Cell Host Microbe.* 2012. Vol. 12, № 4. P. 484–495.
4. Thomma B. P. H., Nürnberger T., Joosten M. H. A. Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy // *Plant Cell.* 2011. Vol. 23, № 1. P. 4–15.
5. Mengiste T. Plant immunity to necrotrophs // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2012. Vol. 50, № 1. P. 267–294.
6. Николайчик Е. А., Овчинникова Т. В., Валентович Л. Н., Губич О. И., Шолух М. В., Евтушенков А. Н. Транслокация белка DspE фитопатогенными бактериями *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* в клетки *Nicotiana tabacum* и его необходимость для индукции реакции гиперчувствительности // Докл. НАН Беларуси. 2005. Т. 49, № 5. С. 81–85.
7. Николайчик Е. А., Кулик Е. В., Бадалян О. А., Валентович Л. Н., Кузьмич С. В., Евтушенков А. Н. Роль рецептороподобной трансмембранной киназы растений семейства пасленовых во взаимодействии с фитопатогеном *Pectobacterium carotovorum* // Докл. НАН Беларуси. 2012. Т. 56, № 1. С. 112–117.
8. Николайчик Е. А. Индукция и супрессия иммунного ответа растений бактериальным патогеном *Pectobacterium carotovorum* // Труды БГУ. 2012. Т. 7, № 1. С. 43–55.
9. Chakravarthy S., Velásquez A. C., Martin G. B. Assay for pathogen-associated molecular pattern (PAMP)-triggered immunity (PTI) in plants // *J. Vis. Exp.* 2009. № 31. P. e1442.
10. Бадалян О. А., Николайчик Е. А. Участие MAP-киназ WIPK и SIPK растений *Nicotiana benthamiana* в детекции фитопатогена *Pectobacterium carotovorum* // Докл. НАН Беларуси. 2013. Т. 57, № 6. С. 75–81.
11. Badalyan O., Nikolaichik Y., Kulik E., Evtushenkov A. N. Identification of *Nicotiana benthamiana* signal chain components required for successful infection by *Pectobacterium carotovorum* // *Acta Phytopathol. Sin.* 2013. Vol. 43 (suppl.). P. 312.
12. Xiang T., Zong N., Zou Y., Wu Y., Zhang J., Xing W., Li Y., Tang X., Zhu L., Chai J., Zhou J. M. *Pseudomonas syringae* effector AvrPto blocks innate immunity by targeting receptor kinases // *Curr. Biol.* 2008. Vol. 18, № 1. P. 74–80.
13. Zhang J., Li W., Xiang T., Liu Z., Laluk K., Ding X., Zou Y., Gao M., Zhang X., Chen S., Mengiste T., Zhang Y., Zhou J. M. Receptor-like cytoplasmic kinases integrate signaling from multiple plant immune receptors and are targeted by a *Pseudomonas syringae* effector // *Cell Host Microbe.* 2010. Vol. 7, № 4. P. 290–301.
14. Николайчик Е. А., Хомская Л. Л., Игнатенко Е. И. Фитопатоген *Pectobacterium carotovorum* использует аппарат секреции III типа для блокирования системного защитного ответа растения-хозяина // Труды БГУ. 2009. Т. 4. С. 197–204.
15. Abuqamar S., Chai M.-F., Luo H., Song F., Mengiste T. Tomato protein kinase 1b mediates signaling of plant responses to necrotrophic fungi and insect herbivory // *Plant Cell.* 2008. Vol. 20, № 7. P. 1964–1983.
16. Lu D., Wu S., Gao X., Zhang Y., Shan L., He P. A receptor-like cytoplasmic kinase, BIK1, associates with a flagellin receptor complex to initiate plant innate immunity // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010. Vol. 107, № 1. P. 496–501.
17. Laluk K., Luo H., Chai M., Dhawan R., Lai Z., Mengiste T. Biochemical and genetic requirements for function of the immune response regulator BOTRYTIS-INDUCED KINASE1 in plant growth, ethylene signaling, and PAMP-triggered immunity in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2011. Vol. 23, № 8. P. 2831–2849.
18. Meng X., Zhang S. MAPK cascades in plant disease resistance signaling // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2013. Vol. 51, № 1. P. 245–266.

Поступила в редакцию 21.04.2014.

Софья Викторовна Кузьмич – студентка 4-го курса биологического факультета.

Ольга Анатольевна Бадалян – аспирант кафедры молекулярной биологии. Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент кафедры молекулярной биологии Е. А. Николайчик.

Евгений Артурович Николайчик – кандидат биологических наук, доцент кафедры молекулярной биологии.